

## 明 細 書

## コラーゲン産生促進用組成物

5

技術分野

本発明は、コラーゲン産生促進用組成物に関する。更に、本発明は、皮膚真皮におけるコラーゲンの産生を促進する方法に関する。

背景技術

10      コラーゲンは、皮膚の真皮の約90%を占める成分であり、皮膚構造の支持、細胞の生存環境の提供、水分保持等の役割を担っている。コラーゲンは、紫外線暴露や乾燥等により皮膚が特定の外因的影響を受けることによって喪失されることが知られている。また、加齢やストレスによっても、コラーゲンが失われてしまいうことも分かっている。また、外因的影響や加齢は、線維芽細胞のコラーゲンの

15      の産生量の減少をも引き起こすことも分かっている。

コラーゲン量を適度保持し、かつ優れたコラーゲン産生能を備えていることは、皮膚を健康に保つ上で極めて重要である。従来より、コラーゲンの産生を促進する物質の検索が盛んに行われているが（例えば、特開2001-316240号公報及び特開2003-278783号公報参照）、核酸及びその関連物質にコラーゲンの産生を促進する作用があることについては報告されていない。

20

発明の開示

そこで本発明は、コラーゲンの産生、特にヒトの皮膚真皮におけるコラーゲンの産生を促進できるコラーゲン産生促進用組成物を提供することを目的とするものである。また、本発明は、外用剤として使用される上記コラーゲン産生促進用組成物を提供することを目的とするものである。

25

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討したところ、プリン系核酸関連物質、特にアデノシン5'-リン酸又はその塩には、皮膚真皮におけるコラーゲンの産生を促進する作用があることを見出した。また、ピリミジン系核酸関連物

質には、プリン系核酸関連物質のコラーゲン産生促進作用を増強する効果があることを見出した。本発明はかかる知見に基づいて、更に検討を重ねて開発されたものである。

即ち、本発明は、下記に掲げるコラーゲン産生促進用組成物である：

- 5 項1. プリン系核酸関連物質を含有する、コラーゲン産生促進用組成物。
- 項2. 更に、ピリミジン系核酸関連物質を含有する、項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 項3. プリン系核酸関連物質が、アデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エステル、アデノシンのリン酸エステルの代謝産物、及びこれらの塩よりなる群から  
10 ら選択される少なくとも1種である、項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 項4. プリン系核酸関連物質が、アデノシンーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 項5. プリン系核酸関連物質が、アデノシン5'ーリン酸及びその塩よりなる群  
15 から選択される少なくとも1種である、項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 項6. ピリミジン系核酸関連物質が、ウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項2  
に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 項7. ピリミジン系核酸関連物質が、ウリジンーリン酸及びその塩よりなる群から  
20 ら選択される少なくとも1種である、項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 項8. ピリミジン系核酸関連物質が、ウリジン5'ーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 項9. プリン系核酸関連物質が、アデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エ  
25 ステル、アデノシンのリン酸エステルの代謝産物、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質が、ウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 項10. プリン系核酸関連物質がアデノシンーリン酸及びその塩よりなる群から

選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジン—リン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

5 項11. プリン系核酸関連物質がアデノシン5'—リン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジン5'—リン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

10 項12. プリン系核酸関連物質1重量部に対して、ピリミジン系核酸関連物質を0.001～100重量部の割合で含有する、項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

項13. プリン系核酸関連物質が、コラーゲン産生促進用組成物の総量に対して、0.01～10重量%の割合で含まれる、項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

15 項14. ピリミジン系核酸関連物質が、コラーゲン産生促進用組成物の総量に対して、0.0001～10重量%の割合で含まれる、項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

項15. 化粧品、外用医薬品又は外用医薬部外品である、項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

項16. 化粧品である、項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

20 また、本発明は、下記に掲げるコラーゲンの産生促進方法である：

項17. プリン系核酸関連物質を皮膚に適用することを特徴とする、コラーゲンの産生促進方法。

項18. プリン系核酸関連物質と共に、ピリミジン系核酸関連物質を皮膚に適用することを特徴とする、項17に記載のコラーゲンの産生促進方法。

25 項19. プリン系核酸関連物質を含有する外用組成物を皮膚に適用する、項17に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項20. プリン系核酸関連物質及びピリミジン系核酸関連物質含有する外用組成物を皮膚に適用する、項18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項21. プリン系核酸関連物質が、アデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸

エステル、アデノシンのリン酸エステルの代謝産物、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項17に記載のコラーゲンの産生促進方法。

5 項22. プリン系核酸関連物質が、アデノシンーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項17に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項23. プリン系核酸関連物質が、アデノシン5'ーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項17に記載のコラーゲンの産生促進方法。

10 項24. ピリミジン系核酸関連物質が、ウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項25. ピリミジン系核酸関連物質が、ウリジンーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

15 項26. ピリミジン系核酸関連物質が、ウリジン5'ーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

20 項27. プリン系核酸関連物質が、アデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エステル、アデノシンのリン酸エステルの代謝産物、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質が、ウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

25 項28. プリン系核酸関連物質がアデノシンーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジンーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、項18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項29. プリン系核酸関連物質がアデノシン5'ーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジン5'ーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、請求項

18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項30. プリン系核酸関連物質1重量部に対して、ピリミジン系核酸関連物質を0.001～100重量部の割合で含有する、項18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

5 項31. プリン系核酸関連物質が、外用組成物の総量に対して、0.01～10重量%の割合で含まれる、項19に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項32. ピリミジン系核酸関連物質が、組成物の総量に対して、0.0001～10重量%の割合で含まれる、項20に記載のコラーゲンの産生促進方法。

10 項33. 外用組成物が、化粧品、外用医薬品又は外用医薬部外品である、項19に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項34. 外用組成物が化粧品である、項19に記載のコラーゲンの産生促進方法。

項35. 項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物を皮膚に適用する、項17に記載のコラーゲンの産生促進方法。

15 項36. 項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物を皮膚に適用する、項18に記載のコラーゲンの産生促進方法。

更に、本発明は、下記態様の使用である：

項37. プリン系核酸関連物質の、コラーゲン産生促進用組成物の製造のための使用。

20 項38. プリン系拡散関連物質及びピリミジン系核酸関連物質の、コラーゲン産生促進用組成物の製造のための使用。

項39. プリン系核酸関連物質の、コラーゲンを産生するための使用。

項40. プリン系拡散関連物質及びピリミジン系核酸関連物質の、コラーゲンを産生するための使用。

25

#### 図面の簡単な説明

図1は、試験例1において、各種濃度のAMP 2Na含有培地でヒト皮膚線維芽細胞を培養した際に、産生されたPICPの濃度を示す図である。

図2は、試験例2において、各種濃度のAMP 2Na及びUMP 2Na含有培地でヒト皮膚線維芽細胞を培養した際に、産生されたPICPの濃度を示す図で

ある。

### 発明を実施するための最良の形態

#### (I) コラーゲン産生促進用組成物

- 5      本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、有効成分として、プリン系核酸関連物質を含有することを特徴とするものである。ここで、プリン系核酸関連物質とは、プリン又はプリン核を骨格とする各種の誘導体及びそれらの塩である。

- 本発明に用いられるプリン系核酸関連物質としては、化粧料や外用の医薬品又は医薬部外品中に配合できるものであれば、特に制限されない。好ましくは水溶性若しくは親水性のものである。プリン系核酸関連物質としては、一般にアデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エステル〔例えばアデノシン2'-リン酸、アデノシン3'-リン酸、アデノシン5'-リン酸、アデノシン5'-二リン酸、アデノシン5'-三リン酸、アデノシン環状リン酸、アデニロコハク酸、ニコチンアミドアデニンモノジヌクレオチド(NMN)、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリ  
10      ン酸(NADP)、フラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)等〕、これらの代謝産物〔例えばヒポキサンチン、イノシン、イノシン酸等〕、及びこれらの塩などのアデニン系核酸関連物質；グアニン、グアノシン、グアノシンのリン酸エステル〔グアノシン3'-リン酸、グアノシン5'-リン酸、グアノシン5'-二リン酸、グアノシン5'-三リン酸等〕、これらの代謝産物〔例えば、キサンチル酸、キサンチン等〕、及びこれ  
15      らの塩などのグアニン系核酸関連物質を挙げることができる。

- 中でも好ましいプリン系核酸関連物質としては、上記に掲げるアデニン系核酸関連物質を例示できる。より好ましくは、アデノシンのリン酸エステル、その代謝物及びこれらの塩であり、更に好ましくはアデノシンのリン酸エステル及びその塩である。ここでアデノシンのリン酸エステルの内、好適に使用されるものとして、アデノシン2'-リン酸、アデノシン3'-リン酸、アデノシン5'-リン酸等のアデノシンーリン酸、特にアデノシン5'-リン酸(AMP)を挙げることができる。  
20      ける。

なお、上記の塩としては、ナトリウム塩やカリウム塩などのアルカリ金属塩；

カルシウム塩、マグネシウム塩およびバリウム塩等のアルカリ土類金属塩；アルギニンやリジン等の塩基性アミノ酸塩；アンモニウム塩やトリシクロヘキシルアンモニウム塩等のアンモニウム塩；モノエタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、モノイソプロパノールアミン塩、ジイソプロパノールアミン塩及びトリイソプロパノールアミンなどの各種のアルカノールアミン塩等を挙げることができる。好ましくはナトリウム塩などのアルカリ金属塩である。かかるアルカリ金属塩として、具体的にはアデノシンーリン酸一ナトリウム、及びアデノシンーリン酸二ナトリウムを例示することができる。

10    なお、これらのプリン系核酸関連物質は、本発明のコラーゲン産生促進用組成物の有効成分として1種単独で使用してもよいし、また2種以上を任意に組み合わせて使用してもよい。

15    本発明のコラーゲン産生促進用組成物に配合されるプリン系核酸関連物質の割合としては、プリン系核酸関連物質の種類、後述するピリミジン系核酸関連物質の有無や種類、該組成物の用途や形態等によっても異なるが、該組成物の総重量に対して、通常0.01～10重量%の範囲から適宜選択して調整することができる。好ましくは1～10重量%、さらに好ましくは3～6重量%が例示される。

20    また、本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、上記プリン系核酸関連物質に加えて、ピリミジン系核酸関連物質を含有していることが望ましく、これによって、プリン系核酸関連物質のコラーゲン産生促進作用を一層高めることができる。ここで、ピリミジン系核酸関連物質とは、ピリミジン又はピリミジン核を骨格とする各種の誘導体及びそれらの塩である。

25    本発明のコラーゲン産生促進用組成物に配合されるピリミジン系核酸関連物質は、化粧料や外用の医薬品又は医薬部外品に使用できるものであれば、特に制限されない。好ましいピリミジン系核酸関連物質としては、水溶性若しくは親水性のものが挙げられる。かかるピリミジン系核酸関連物質としては、具体的にはウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル〔ウリジンーリン酸（ウリジン5'ーリン酸、ウリジン3'ーリン酸、ウリジン2'ーリン酸）、ウリジン二リン酸、ウリジン三リン酸、ウリジン環状リン酸等〕、デオキシウリジン、デオキシウリジンのリン酸エステル〔5'ーデオキシウリジン二リン酸（dUDP）、5'ーデオキシウ

リジル酸 (dUMP) 等] 及びこれらの塩等のウラシル系核酸関連物質; シトシン、シチジン、シチジンのリン酸エステル (CMP) [シチジン一リン酸 (シチジン5'-リン酸、シチジン3'-リン酸、シチジン2'-リン酸)、シチジン三リン酸 (CTP)、シチジン二リン酸 (CDP)]、デオキシシチジン、デオキシシチジンのリン酸エステル (5'-デオキシシチジン三リン酸 (dCTP)、5'-デオキシシチジン二リン酸 (dCDP)、5'-デオキシシチジル酸 (dCMP) 等) 及びこれらの塩等のシトシン系核酸関連物質; チミン、チミジン、チミジンのリン酸エステル [チミジル酸 (dTMP)、チミジン二リン酸 (dTDP)、チミジン三リン酸 (dTTP) 等]、オロト酸、5'-オロトチジル酸、及びこれらの塩等のチミン系核酸関連物質を例示することができる。

なお、ここでピリミジン系核酸関連物質として、上記の各成分を含有するものであれば特に、その精製度 (純度) を問うものではない。当該ピリミジン系核酸関連物質として、例えばアブラナ科植物 (特に種子) 又はマメ科植物の抽出液等の上記成分を含有する植物抽出物を用いることもできる。

特に、上記に掲げるウラシル系核酸関連物質は、プリン系核酸関連物質のコラーゲン産生作用をより一層効果的に増強できるので、好適に使用されるピリミジン系核酸関連物質である。中でも、好ましくは、ウリジン、ウリジンのリン酸エステルまたはそれらの塩であり、より好ましくはウリジンのリン酸エステルまたはそれらの塩である。ここでウリジンのリン酸エステルの内、好適なものとしてウリジン一リン酸、特にウリジン5'-リン酸 (UMP) を挙げることができる。

また上記の塩としては、いずれもナトリウム塩やカリウム塩等のアルカリ金属塩; カルシウム塩、マグネシウム塩及びバリウム塩等のアルカリ土類金属塩; アルギニンやリジン等の塩基性アミノ酸塩; アンモニウム塩やトリシクロヘキシルアンモニウム塩等のアンモニウム塩; モノエタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、モノイソプロパノールアミン塩、ジイソプロパノールアミン塩及びトリイソプロパノールアミンなどの各種のアルカノールアミン塩等を挙げることができる。

これらの中で、好ましくはナトリウム塩などのアルカリ金属塩である。かかるアルカリ金属塩として、具体的にはウリジン一リン酸一ナトリウム、及びウリジ



ンーリン酸二ナトリウムが例示される。

なお、これらのピリミジン系核酸関連物質は、本発明のコラーゲン産生促進用組成物に1種単独で配合してもよいし、また2種以上を任意に組み合わせて配合してもよい。

- 5      本発明のコラーゲン産生促進用組成物に配合されるピリミジン系核酸関連物質の割合は、上記コラーゲン産生促進増強効果を奏する範囲であれば特に制限されず、例えば、プリン系核酸関連物質1重量部に対してピリミジン系核酸関連物質が0.001～100重量部の割合となるような範囲から適宜選択することができる。好ましくは、プリン系核酸関連物質1重量部に対してピリミジン系核酸関連物質が0.01～100重量部、更に好ましくは0.01～10重量部、より好ましくは0.01～1重量部である。また、コラーゲン産生促進用組成物の総重量に対するピリミジン系核酸関連物質の割合としては、例えば、ピリミジン系核酸関連物質が総量で0.0001～10重量%、好ましくは0.0001～1重量%、更に好ましくは0.0001～0.1重量%を挙げることができる。
- 10      本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、上記成分の他に、薬学的又は香粧的に許容される基剤や担体を組み合わせて各種の形態に調製される。薬学的又は香粧的に許容される基剤や担体については、従来公知のものを用いることができる。また、本発明のコラーゲン産生促進用組成物には、必要に応じて化粧料や外用の医薬品・医薬部外品等の皮膚や粘膜に適用される外用組成物に配合される公知の
- 15      各種成分を配合することができる。このような成分として、例えば、界面活性剤、色素（染料、顔料）、香料、防腐剤、殺菌剤（抗菌剤）、増粘剤、酸化防止剤、金属封鎖剤、清涼化剤、防臭剤、保湿剤、紫外線吸収剤、紫外線散乱剤、ビタミン類、植物エキス、皮膚収斂剤、抗炎症剤（消炎剤）、美白剤、細胞賦活剤、血管拡張剤、血行促進剤、及び皮膚機能亢進剤等を挙げることができる。
- 20      上記成分の内、界面活性剤の具体例としては、高級脂肪酸石けん、アルキル硫酸エステル塩、ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩、アルキルエーテルリン酸エステル塩、N-アシルアミノ酸塩、アシルN-メチルタウリン塩等のアニオン界面活性剤；塩化アルキルトリメチルアンモニウム、塩化ジアルキルジメチルアンモニウムなどのカチオン界面活性剤；アルキルジメチルアミノ酢酸ベタ
- 25

イン、アルキルアミドジメチルアミノ酢酸ベタイン、2-アルキル-N-カルボキシ-N-ヒドロキシイミダゾリニウムベタインなどの両性界面活性剤；ポリオキシエチレン型、多価アルコールエステル型、エチレンオキシド・プロピレンオキシドブロック共重合体などの非イオン界面活性剤等を挙げることができる。また特に制限されることなく、高分子界面活性剤や天然界面活性剤に属する界面活性剤も使用することができる。

また防腐剤の具体例として、パラオキシ安息香酸エチル、サリチル酸、及びソルビン酸等を例示することができる。増粘剤の具体例として、キサンタンガム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシビニルポリマー等を例示することができる。金属封鎖剤の具体例として、エチレンジアミン四酢酸のナトリウム塩、リン酸、クエン酸等を例示することができる。

本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、皮膚に塗布又は噴霧される外用組成物として使用される。具体的には、本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、化粧品、外用医薬品又は外用医薬部外品等の外用剤（外皮用剤）として使用される。これらの内、日常的に皮膚のコラーゲン産生を促進できるという観点から化粧料が好ましい。なお、かかる外用剤には、養毛剤や育毛剤、または養毛や育毛に効果のあるシャンプー、リンス、ヘアローション（トニック、リキッドを含む）等の各種のヘア化粧料が含まれる。

本発明のコラーゲン産生促進用組成物の形態については、皮膚や粘膜に適用可能なものであれば特に制限されず、例えば、ペースト状、ムース状、ジェル状、液状、乳液状、懸濁液状、クリーム状、軟膏状、シート状、エアゾール状、スプレー状、リニメント剤を例示することができる。特に化粧料とする場合であれば、ローション；エモリエント乳液、ミルキーローション、ナリシング乳液、クレンジング乳液等の乳液；エモリエントクリーム、マッサージクリーム、クレンジングクリーム、メイクアップクリーム等のクリーム等を例示することができる。また、特に養毛剤や育毛剤等のヘア製品とする場合であれば、トニック、ヘアクリーム、ヘアローション、エアゾール（噴霧剤）、ムース、シャンプー、リンス、リキッド等を例示することができる。

本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、化粧品、外用医薬品又は外用医薬部

外品として、皮膚や粘膜に直接塗布、噴霧又は貼付して使用することができる。その使用割合は、使用者（ヒト）の年齢、性別、用途、患部の症状の程度等に応じて、コラーゲン産生を促進する有効量を、1回／日から5又は6回／日の回数で皮膚に経皮的に投与される。

- 5      本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、コラーゲンの産生を促進することにより、抗老化、保湿、抗アクネ、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、抗フケ、美爪、創傷治療等の効果を奏する。故に、本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、抗老化、保湿、抗アクネ、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、抗フケ、美爪、創傷治療等を目的とする化粧料、外用医薬品又は外用医薬部外品として用い
- 10      ることができる。中でも、本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、抗老化、保湿、抗アクネ、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、美爪、創傷治療を目的とする各種外用剤として有用である。特に、本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、抗シワ作用を効果的に発揮できるので、抗シワを目的とする各種外用剤として有用である。
- 15      本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、皮膚に適用されることによって、優れたコラーゲン産生促進効果を奏する。従って、更に、本発明は、プリン系核酸関連物質の、コラーゲン産生促進用組成物の製造のための使用；及びプリン系核酸関連物質及びピリミジン系核酸関連物質の、コラーゲン産生促進用組成物の製造のための使用を提供する。

20

## (II) コラーゲンの産生促進方法

また本発明は、コラーゲンの産生促進方法を提供する。当該方法は、プリン系核酸関連物質を皮膚に適用することによって実施される。

- また、本発明の方法において、プリン系核酸関連物質と共に、ピリミジン系核酸関連物質を皮膚に適用することによって、一層顕著にコラーゲン産生促進効果が奏される。
- 25

本発明の方法において、上記物質の皮膚への適用は、簡便には、上記(I)のコラーゲン産生促進用組成物を皮膚に塗布、噴霧又は貼付することにより行うことができる。

本発明の方法において、プリン系核酸関連物質又は、プリン系核酸関連物質と  
 ピリミジン系核酸関連物質を皮膚に適用する頻度及び量については、特に制限さ  
 れない。例えば、対象者の年齢、性別、期待される効果、皮膚症状の程度等に応  
 じて、1回/日から5又は6回/日の回数で、適当量を皮膚に経皮的に適用され  
 る。具体的には、上記(I)のコラーゲン産生促進用組成物を使用して本発明の方  
 法を実施する場合であれば、例えば適用される皮膚の面積に対する該組成物の適  
 用割合が0.5～10mg/cm<sup>2</sup>の範囲となるような量を1回適用量の目安とす  
 ることができる。

10

### 実施例

以下、実施例及び試験例を挙げて本発明を説明するが、本発明はこれらに限定  
 されるものではない。なお、以下の試験例において、w/v%とは、100ml  
 中に含まれる重量(g)を意味するものである。

15

#### 実施例1 化粧水 (pH6.5)

|                         |           |
|-------------------------|-----------|
| アデノシンーリン酸二ナトリウム         | 3.0 (重量%) |
| ウリジンーリン酸二ナトリウム          | 0.1       |
| ポリオキシエチレン(E.O.60)硬化ヒマシ油 | 0.7       |
| エタノール                   | 5.0       |
| 20 グリセリン                | 2.0       |
| 防腐剤                     | 0.2       |
| 香料                      | 適量        |
| pH調整剤                   | 適量        |
| 精製水                     | 残余        |
| 25 合計                   | 100.0 重量% |

常法にしたがって、上記処方化粧水を調製した。

#### 実施例2 乳液 (pH6.5)

|                 |           |
|-----------------|-----------|
| アデノシンーリン酸二ナトリウム | 1.5 (重量%) |
|-----------------|-----------|

|    |                 |       |     |
|----|-----------------|-------|-----|
|    | ウリジンーリン酸二ナトリウム  | 0.01  |     |
|    | カルボキシビニルポリマー    | 0.3   |     |
|    | モノミリスチン酸デカグリセリン | 2.0   |     |
|    | スクワラン           | 5.0   |     |
| 5  | エタノール           | 1.0   |     |
|    | グリセリン           | 6.0   |     |
|    | 防腐剤             | 0.2   |     |
|    | pH調整剤           | 適量    |     |
|    | 精製水             | 残余    |     |
| 10 | 合計              | 100.0 | 重量% |

常法にしたがって、上記処方の乳液を調製した。

### 実施例3 養毛剤

|    |                 |       |       |
|----|-----------------|-------|-------|
|    | アデノシンーリン酸二ナトリウム | 10.0  | (重量%) |
| 15 | ウリジンーリン酸二ナトリウム  | 1.0   |       |
|    | サリチル酸           | 0.1   |       |
|    | エタノール           | 20.0  |       |
|    | グリセリン           | 2.0   |       |
|    | 防腐剤             | 0.2   |       |
| 20 | 香料              | 適量    |       |
|    | 精製水             | 残余    |       |
|    | 合計              | 100.0 | 重量%   |

常法にしたがって、上記処方の養毛剤を調製した。

### 25 実施例4 乳液 (pH6.5)

|  |                 |     |       |
|--|-----------------|-----|-------|
|  | アデノシンーリン酸二ナトリウム | 4.0 | (重量%) |
|  | ウリジンーリン酸二ナトリウム  | 1.0 |       |
|  | カルボキシビニルポリマー    | 0.3 |       |
|  | モノミリスチン酸デカグリセリン | 2.0 |       |

|   |       |           |
|---|-------|-----------|
|   | スクワラン | 5.0       |
|   | エタノール | 1.0       |
|   | グリセリン | 6.0       |
|   | 防腐剤   | 0.2       |
| 5 | pH調整剤 | 適量        |
|   | 精製水   | 残余        |
|   | 合計    | 100.0 重量% |

常法にしたがって、上記処方 of 乳液を調製した。

#### 10      試験例 1   アデノシンーリン酸二ナトリウムの培養ヒト皮膚線維芽細胞のコラーゲン産生促進効果の評価

初代培養ヒト皮膚線維芽細胞(クラボウ社製)を 10cm シャーレに培養し、サブコンフルエント状態において回収し凍結保存した。この細胞を用いて、アデノシンーリン酸二ナトリウム(以下AMP 2Naという)のコラーゲン産生促進効果について評価を行った。なお、以下、AMP 2Naについては、AMPの濃度に換算して記載した。

##### <評価方法>

1) 凍結保存した細胞を LSGS (Low Serum Growth Supplement) 含有 Medium106S 液体培地(クラボウ社製)に溶解して、30000cells/100 $\mu$ l となるように細胞濃度及び培地量を調整した、当該細胞含有液を試験プレートのウェルに、1ウェルあたり 100 $\mu$ l ずつの割合で注入した。

2) 滅菌リン酸緩衝液を用いて各種濃度のAMP 2Na溶液を調製し、フィルター過により滅菌した。これを Medium106S 液体培地(クラボウ社製)に加えて、各種濃度(0~1 $\times$ 10<sup>-6</sup>w/v%)のAMP 2Na含有培地を調製した。

3) プレートの各ウェルへの細胞注入から 24 時間後、細胞のウェル上への接着を確認し、各ウェルから培地を除去した。次いで、各ウェルに上記 2) で調製した各種濃度のAMP 2Na含有培地(200 $\mu$ l)を添加した。これを 37℃、5%CO<sub>2</sub>の条件下で 2 日間培養した。

4) 各ウェル中の培養上清を回収し、当該培養上清中のコラーゲン量の指標とし

て、Procollagen type I C-peptide (PICP) 量を、Procollagen type I C-peptide (PIP) EIA Kit (TaKaRa 社製) を用いて測定した。

### <結果>

- 5 得られた結果を図 1 に示す。図 1 から分かるように、AMP 2 Na の濃度が  $1 \times 10^{-8} \sim 10^{-5}$  w/v % の培地で培養した細胞は、AMP 無添加の培地で培養した細胞に比して、PICP 量が増加していた。特に、AMP 2 Na の濃度が  $1 \times 10^{-5}$  w/v % のものでは、AMP 無添加に比して約 1.4 倍量の PICP が産生されていることが確認された。

10

試験例 2 アデノシンーリン酸二ナトリウムとウリジンーリン酸二ナトリウムの併用による培養ヒト皮膚線維芽細胞のコラーゲン産生促進効果の評価

- AMP 2 Na とウリジンーリン酸二ナトリウム（以下、UMP 2 Na という）を併用することによって奏されるコラーゲン産生促進効果を評価した。具体的には、下表 1 に示す割合で AMP 2 Na 及び UMP 2 Na を含有する培地（試験培地 1 ～ 4）を調製し、これらを使用すること以外は、上記試験例 1 と同様の方法で培養ヒト皮膚線維芽細胞のコラーゲン産生促進効果の評価を行った。なお、表 1 中、AMP 2 Na 及び UMP 2 Na については、それぞれ AMP 及び UMP の濃度に換算して記載した。

20

表 1

|        | 配合割合 (w/v %)       |                    |
|--------|--------------------|--------------------|
|        | AMP 2 Na           | UMP 2 Na           |
| 試験培地 1 | $1 \times 10^{-6}$ | $1 \times 10^{-8}$ |
| 試験培地 2 | $1 \times 10^{-6}$ | 0                  |
| 試験培地 3 | 0                  | $1 \times 10^{-8}$ |
| 試験培地 4 | 0                  | 0                  |

- 得られた結果を図 2 に示す。図 2 から、AMP 2 Na にはコラーゲン産生促進作用があること、並びに、UMP 2 Na 自体にはコラーゲン産生促進作用がないが、AMP 2 Na のコラーゲン産生促進作用を飛躍的に増強することが明らかと

25

なった。

#### 産業上の利用可能性

- 5 本発明のコラーゲン産生促進用組成物の有効成分であるプリン系核酸関連物質には、優れたコラーゲン産生促進作用がある。特に、当該プリン系核酸関連物質のコラーゲン産生促進作用は、ピリミジン系核酸関連物質の存在によって、顕著に増強される。従って、本発明のコラーゲン産生促進用組成物は、コラーゲン産生促進剤として使用され、コラーゲンの産生、特に皮膚真皮のコラーゲンの産生を効果的に促進することができる。
- 10 また、本発明によれば、優れたコラーゲン産生促進作用を有し、抗老化、保湿、抗アクネ、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、抗フケ、美爪、創傷治療等に有用な外用剤を提供することができる。



## 請求の範囲

1. プリン系核酸関連物質を含有する、コラーゲン産生促進用組成物。
- 5    2. 更に、ピリミジン系核酸関連物質を含有する、請求項 1 に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
3. プリン系核酸関連物質が、アデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エステル、アデノシンのリン酸エステルの代謝産物、及びこれらの塩よりなる群から  
10    選択される少なくとも 1 種である、請求項 1 に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
4. プリン系核酸関連物質が、アデノシンーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも 1 種である、請求項 1 に記載のコラーゲン産生促進用組成物。  
15
5. プリン系核酸関連物質が、アデノシン 5' -リン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも 1 種である、請求項 1 に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
- 20    6. ピリミジン系核酸関連物質が、ウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも 1 種である、請求項 2 に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
7. ピリミジン系核酸関連物質が、ウリジンーリン酸及びその塩よりなる群から  
25    選択される少なくとも 1 種である、請求項 2 に記載のコラーゲン産生促進用組成物。
8. ピリミジン系核酸関連物質が、ウリジン 5' -リン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも 1 種である、請求項 2 に記載のコラーゲン産生促進用

組成物。

9. プリン系核酸関連物質が、アデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エステル、アデノシンのリン酸エステルの代謝産物、及びこれらの塩よりなる群から  
5 選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質が、ウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、請求項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

10. プリン系核酸関連物質がアデノシンーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジンーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、請求項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

15 11. プリン系核酸関連物質がアデノシン5'ーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジン5'ーリン酸及びその塩よりなる群から選択される少なくとも1種である、請求項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

20 12. プリン系核酸関連物質1重量部に対して、ピリミジン系核酸関連物質を0.001～100重量部の割合で含有する、請求項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

25 13. プリン系核酸関連物質が、コラーゲン産生促進用組成物の総量に対して、0.01～10重量%の割合で含まれる、請求項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

14. ピリミジン系核酸関連物質が、コラーゲン産生促進用組成物の総量に対して、0.0001～10重量%の割合で含まれる、請求項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

15. 化粧品、外用医薬品又は外用医薬部外品である、請求項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物。

5 16. プリン系核酸関連物質を皮膚に適用することを特徴とする、コラーゲンの産生促進方法。

17. プリン系核酸関連物質と共に、ピリミジン系核酸関連物質を皮膚に適用することを特徴とする、請求項16に記載のコラーゲンの産生促進方法。

10

18. 請求項1に記載のコラーゲン産生促進用組成物を皮膚に適用する、請求項16に記載のコラーゲンの産生促進方法。

15 19. 請求項2に記載のコラーゲン産生促進用組成物を皮膚に適用する、請求項17に記載のコラーゲンの産生促進方法。

20. プリン系核酸関連物質の、コラーゲン産生促進用組成物の製造のための使用。

20 21. プリン系拡散関連物質及びピリミジン系核酸関連物質の、コラーゲン産生促進用組成物の製造のための使用。

1/1

図 1

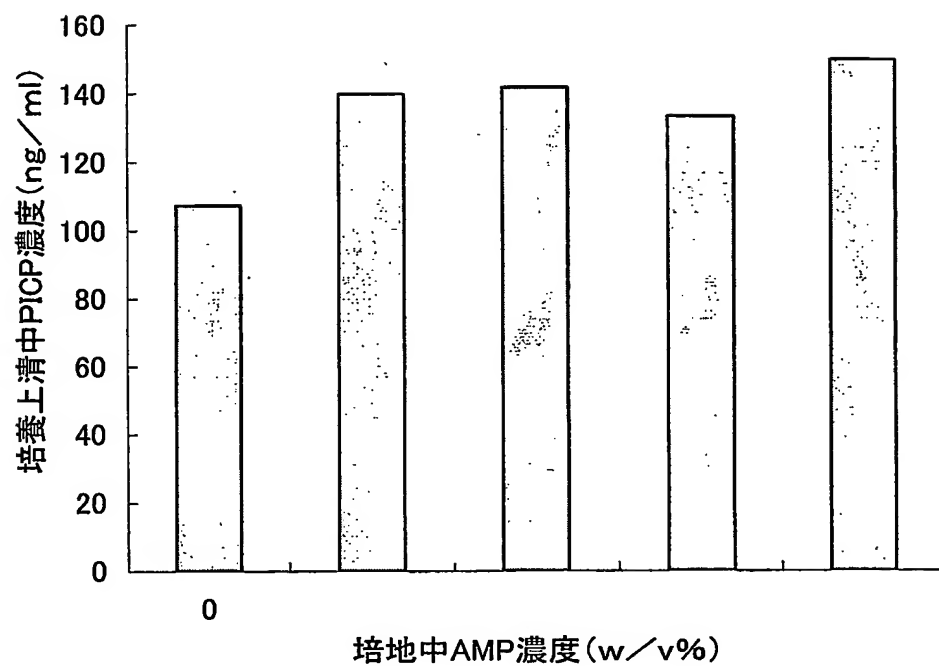
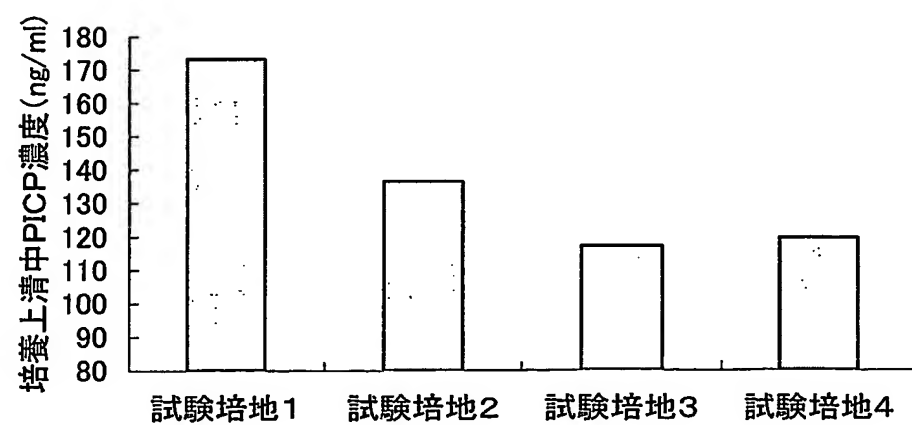


図 2



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/015298

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K7/48, 31/7064

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K7/00-7/50, A61K31/00-31/80

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X         | L.J. Croucher et al., 'Extracellular ATP and UTP stimulate cartilage proteoglycan and collagen accumulation in bovine articular chondrocyte pellet cultures', Biochimica et Biophysica Acta 1502 (2000) 297-306 | 1-15, 20-21           |
| X         | JP 2003-40729 A (BASF AG.),<br>13 February, 2003 (13.02.03),<br>Claims; Par. No. [0033]<br>& EP 1273285 A2 & DE 10132338 A1<br>& US 2003/068349 A1 & CN 1395918 A   | 1, 3, 13, 15, 20      |
| X         | JP 6-48934 A (Sansei Seiyaku Kabushiki Kaisha),<br>22 February, 1994 (22.02.94),<br>Claim 5<br>(Family: none)   | 1, 3, 13, 15, 20      |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

|   |  |
|---|--|
| * Special categories of cited documents:  | "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone   |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date   | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family  |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  |  |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed  |  |

Date of the actual completion of the international search  
10 February, 2005 (10.02.05)

Date of mailing of the international search report  
01 March, 2005 (01.03.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/015298

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                  | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X         | JP 9-295915 A (Kikkoman Corp.),<br>18 November, 1997 (18.11.97),<br>Claims; examples<br>(Family: none)              | 1, 3, 13, 15, 20      |
| X         | JP 2001-31549 A (Pola Chemical Industries<br>Inc.),<br>06 February, 2001 (06.02.01),<br>Full text<br>(Family: none) | 1, 3, 13, 15, 20      |
| X         | JP 63-183535 A (Lion Corp.),<br>28 July, 1988 (28.07.88),<br>Full text<br>& EP 256472 A2                            | 1, 13, 15, 20         |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2004/015298

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 16-19

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The "method of promoting the production of collagen" as set forth in the above claims involves "treatment of wound" in the scope thereof and, therefore, pertains to "methods for treatment of the human body by therapy" (Rule 39.1(iv) of the Regulations under the Patent Cooperation Treaty).

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K7/48, 31/7064

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K7/00-7/50, A61K31/00-31/80

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

## C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の<br>カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示   | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| X               | L. J. Croucher et al., 'Extracellular ATP and UTP stimulate cartilage proteoglycan and collagen accumulation in bovine articular chondrocyte pellet cultures',<br>Biochimica et Biophysica Acta 1502 (2000) 297-306 | 1-15, 20-21      |
| X               | JP 2003-40729 A (BASF Aktiengesellschaft)<br>2003. 02. 13 特許請求の範囲及び【0033】参照<br>&EP 1273285 A2      &DE 10132338 A1      &US 2003/068349 A1<br>&CN 1395918 A   | 1, 3, 13, 15, 20 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 02. 2005

国際調査報告の発送日

01. 3. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

森井 裕美

4C

9737

電話番号 03-3581-1101 内線 3402



| C (続き). 関連すると認められる文献 |  |                  |
|----------------------|--|------------------|
| 引用文献の<br>カテゴリー*      | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示                                    | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
| X                    | JP 6-48934 A (三省製薬株式会社)<br>1994. 02. 22 特許請求の範囲第 5 項参照<br>ファミリー無し    | 1, 3, 13, 15, 20 |
| X                    | JP 9-295915 A (キッコーマン株式会社)<br>1997. 11. 18 特許請求の範囲及び実験例参照<br>ファミリー無し | 1, 3, 13, 15, 20 |
| X                    | JP 2001-31549 A (ポーラ化成工業株式会社)<br>2001. 02. 06 文献全体<br>ファミリー無し        | 1, 3, 13, 15, 20 |
| X                    | JP 63-183535 A (ライオン株式会社)<br>1988. 07. 28 文献全体<br>&EP 256472 A2      | 1, 13, 15, 20    |

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 16-19 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
上記請求の範囲に記載の「コラーゲンの産生促進方法」は「創傷治療」もその範囲に包含するものであることから、上記方法は「治療による人体の処置方法」に該当する。  
(特許協力条約に基づく規則39.1(iv))
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。